

阿尔茨海默病预防及治疗性疫苗的研究进展

张 助^{1,2} 马清钧^{1*}

¹(军事医学科学院生物工程研究所,北京 100850)

²(天津 464 医院,天津 300381)

摘 要 1999 年,用人体内源性的 β -淀粉样蛋白($A\beta$)主动免疫,引发自身免疫来预防和治疗阿尔茨海默病淀粉样蛋白沉积症的新策略,在动物实验中获得了巨大成功,从而开辟了 AD 研究的全新领域,也对传统的免疫学自身耐受理论提出了挑战。虽然主动免疫在体内清除 $A\beta$ 沉积的机制尚不清楚,这个方法仍然在 2001 年迅速走入了临床试验。主动免疫在绝大多数病人体内有效地诱发出具有高度选择特异性的抗- $A\beta$ 的抗体,并且可以观察到类似于动物实验所显示的清除脑部 $A\beta$ 沉积的巨大作用,使人们看到了征服 AD 的希望。但随之出现的部分中枢神经系统炎症病例却使此项临床试验被终止。AD 主动免疫治疗的动物实验、人体实验及相关机理研究近年进展极快,是一个深具发展潜力的新领域。

关键词 阿尔茨海默病,淀粉样蛋白,疫苗,主动免疫

中图分类号 Q342 文献标识码 C 文章编号 1000-3061(2003)06-0641-05

阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)是一种以记忆减退、认知障碍、人格改变为特征的神经退行性疾病,是老年性痴呆的最常见的形式之一^[1]。一般 60 岁左右开始出现症状,会从最初的轻微健忘和思维混乱发展到最后的精神功能严重丧失,日常生活完全不能自理,卧床不起。患者最常见死于肺炎。AD 患病风险随年龄增长急剧上升^[2]。由于匮乏对 AD 神经病理学和病因的深入了解,临床上至今未能找到行之有效的治疗方法^[3]。

1999 年, Dale Schenk 首先应用主动免疫的方法,在 AD 的转基因小鼠模型中预防和治疗 AD,获得极佳效果^[4]。这项研究立刻震动了整个 AD 学界。人们似乎看到了征服 AD 的曙光。以此项研究为契机,众多实验室开始把目光投向阿尔茨海默病的免疫预防和治疗,目前已经取得了一些振奋人心的结果,随之也涌现了不少问题。现对 AD 的神经病理学特征和近几年来 AD 疫苗研究的主要进展做一综述。

1 AD 与淀粉样蛋白沉积的产生

AD 患者的脑结构有两种典型的病理学改变:一是神经细胞内,以配对的螺旋状纤维形式存在的高度磷酸化的 τ 蛋白沉积,称神经原纤维缠结(Neurofibrillary tangles, NFTs);二是大脑实质中神经细胞外的蛋白沉积,称老年斑(Senile plaques, SP)。经过其周边的神经突起多呈营养不良状^[2]。此外,脑血管上也常见有淀粉样蛋白沉积,还会出现突触丢失、神经元死亡等现象。老年斑的主要成分是大量形成 β -片

层结构的淀粉样蛋白(β Amyloid, $A\beta$)是 β -淀粉样蛋白前体(β -Amyloid precursor protein, β APP)在体内加工裂解而来的,主要由 40 或 42 个氨基酸残基组成的多肽。人体内 APP 的代谢与 α -、 β -和 γ -Secretase 这三种蛋白酶密切相关。 α -Secretase 可从 APP687 位点切割 APP 蛋白,产生 83 个氨基酸的片段和有 687 个氨基酸的 APPs α 。这种切割方式将不会产生 $A\beta$ 蛋白,但两种产物都会被分泌到脑脊液中并能被稳定地检测到。APPs α 被认为在突触发生、记忆形成、巩固及保持等过程中起重要作用。而 β -Secretase 从 APP672 位点切割产生 $A\beta$ 的 N 端, γ -Secretase 在细胞跨膜区内选择性切割产生淀粉样蛋白 $A\beta_{1-40}$ 或 $A\beta_{1-42}$ (图 1)。

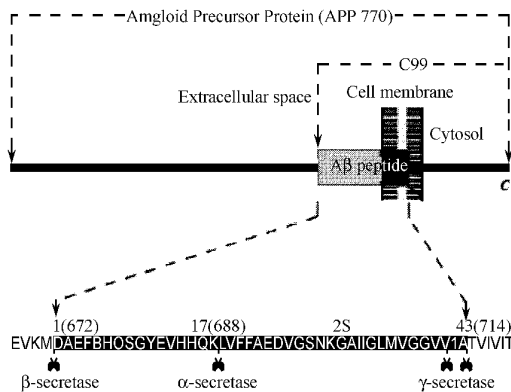


图 1 体内 $A\beta$ 产生的过程(引自文献[3]有改动)

Fig. 1 Production of $A\beta$ from APP (from reference[3] modified)

APP 加工后分泌出来的片段以游离、单体或寡聚体等状态存在于脑脊液和血浆中。一般情况下,降解的产物多为 40 个氨基酸的 $A\beta_{1-40}$,它是可溶性的。在 AD 患者,由于早老素(Presenilin-1)基因突变,氧自由基过量产生, Ca^{2+} 稳态破坏,载脂蛋白 E 等位基因形式等诸多内外因素直接或间接的影响,APP 在加工过程中会倾向于过多产生比 $A\beta_{1-40}$ 稍长却易于纤维化沉积的 $A\beta_{1-42}$ 。这种多肽随时间推移逐渐在脑内沉积,进而形成 SP,最终进行性地导致神经病理学改变和精神症状的出现^[2]。

2 疫苗防治 AD 淀粉样沉积症的效果

由于缺乏行之有效的治愈方法,目前 AD 的临床治疗策略主要是增加未损伤神经元的工作效率,或使用消炎药减少伴随 AD 的慢性神经炎症,或者增加抗氧化剂的保护作用以减轻由 $A\beta$ 引起的神经元氧化损伤等。但这些治疗都只可延缓而不能阻止或逆转病程的发展。近来,主动免疫策略在动物实验中的巨大成功给人们带来了征服 AD 的希望^[4]。

2.1 动物实验研究进展

动物实验中使用的第一个 AD 转基因模型是 PDAPP 小鼠。这个模型是将突变的人 APP(V717F)基因用同源重组的方法整合到小鼠基因组中,并使其在血小板源性生长因子(Platelet-derived growth-factor, PDGF)启动子的控制下过量表达,从而在动物脑内进行性地产生标志性的 AD 神经病理学症状 SP,并伴发认知功能尤其是记忆的损伤^[5]。以后相继出现了多种可以过量表达 APP 或其突变体的转基因小鼠模型,成为 AD 治疗和预防研究的重要工具。

1999 年 Schenk D 等人首先以 PDAPP 转基因小鼠作为病理模型,用人工合成的人 $A\beta_{1-42}$ 进行多次皮下免疫接种,结果引发了体内针对 $A\beta$ 的自身免疫反应,并使小鼠的脑内几乎没有了 $A\beta$ 沉积,从而阻止了 SP 的形成,对已经形成部分 SP 的老龄 PDAPP 鼠进行免疫,使 SP 的增加显著减少;已经形成的一些 SP 也因为疫苗注射而消失^[4]。继而,Janus C 等用 $A\beta_{42}$ 免疫表达突变 hAPP 的转基因小鼠, Morris 水迷宫试验表明,主动免疫确实能减少小鼠的行为学损伤^[6]。Morgan D 等用 $A\beta_{42}$ 免疫 hAPP+PS1 转基因小鼠,免疫后的小鼠在学习和记忆实验中表现很好,未免疫者表现差。 $A\beta_{42}$ 免疫对实验动物脑中已经形成的淀粉样沉积几乎没有作用,但能够在不减少 $A\beta$ 沉积的情况下改善小鼠的行为学损伤^[7]。

由此可见,在 AD 动物病理模型中,通过主动免疫的确能够预防和减轻脑内淀粉样蛋白沉积症,并可以达到改善精神症状的效果。由此,一个崭新的 AD 防治领域开始蓬勃发展起来。在 Schenk 之后,有诸多实验证明,用 $A\beta$ 通过不同的免疫途径和方式进行主动免疫,都能够在转基因动物模型中阻止老年斑的形成。

哈佛大学医学院的 Lemere CA 等人以鼻饲方式免疫 PDAPP 小鼠,使其大脑 $A\beta$ 沉积减少了 50%~60%^[8]。他们还以低剂量的大肠杆菌热稳定肠毒素(LT)和被改造为无毒的 LK R129G 作为鼻饲疫苗的粘膜免疫佐剂,结果诱发 $A\beta$

特异性抗体的滴度比不加佐剂时分别增加了 12 倍和 16 倍。改进后的方案正在 AD 小鼠模型中验证^[9]。粘膜接种方式不但从免疫剂量上要低于皮下接种,也更有利于将来的应用。Nicolau C 等使用脂质体/ $A\beta$ 疫苗免疫 NORBA 转基因小鼠,能够阻止小鼠胰腺淀粉样斑块的形成^[10]。

有人认为在血清中诱发高滴度的 $A\beta$ 特异性抗体,可能会影响到 APP 及其代谢产物的正常生理功能。因此,减少 $A\beta$ 作为免疫原的毒性,并增加所诱发体液免疫反应的特异性也显得十分重要。

Sigurdsson 等构建了经过修饰的 $K6A\beta_{1-30}$,即在 $A\beta_{1-30}$ 的 N 端加上 6 个赖氨酸残基,使它高度可溶,对培养的人神经细胞也无任何毒性。用以免疫 Tg2576 系小鼠可使小鼠脑内的 $A\beta$ 沉积斑块比对照组减少 80% 以上,同时脑内的可溶性 $A\beta_{1-42}$ 水平下降 57%^[11]。Frenkel D 等人将 $A\beta_{3-6}$ 即 EFRH 四氨基酸表位展示于丝状噬菌体表面(与表面蛋白 VIII 融合),并用以免疫 APF(V717F)转基因小鼠,在抗体滴度达到 1:100 以上的个体中都能够观察到脑内 $A\beta$ 沉积的显著减少。在所观察的样本中,淀粉样沉积的减少量和抗体的滴度基本呈现剂量反应关系^[12]。McLaurin J 等人则采用 $A\beta_{42}$ 原纤维化的凝聚体免疫 TgCRND8 小鼠,可以诱发特异性针对 $A\beta_{4-10}$ 氨基酸残基的 IgG2b 亚群抗体,并减轻了转基因动物大脑的 $A\beta$ 沉积和认知功能损伤。他们认为可能是这些抗体抑制了体内的 $A\beta$ 的原纤维化凝聚和毒性诱发的是 Th2 型免疫反应而无 Th1 型免疫反应,减少了小神经胶质细胞的死亡,并避免了炎症产生的可能性^[13]。不久前,AD 淀粉样蛋白病因说的始作俑者 John Hardy 和 Dennis Selkoe 经过实验研究提出了一个崭新的观点,即 AD 的原始病因既非纤维状的 $A\beta$,也不是可溶性的 $A\beta$ 单体,而是 $A\beta_{42}$ (非 $A\beta_{1-40}$)寡聚体(可溶性的双体和三聚体)^[14]。这和 McLaurin 的结论真是不谋而合,更说明这种免疫方式可能是非常具有前途的。

以上动物实验在增强 $A\beta$ 免疫原性方面积累了非常有意义的资料,并均证明采用 $A\beta$ 主动免疫对预防和治疗 AD 有很好的前景。

2.2 人体试验

第一例小鼠实验结果发表 2 年后,新颖的 AD 主动免疫防治方法就通过论证,由美国的 Elan 公司主持,在欧美得以全方位进入人体试验。如此迅速地从动物试验走向临床,在药物开发的历史上委实少见。虽不免有所质疑,人们对此项实验的结果还是寄予厚望。然而它随后却命运多舛。2001 年,新疫苗 AN-1792(合成的人 $A\beta_{42}$ 肽)在 100 余例轻度到中度 AD 患者中进行了 I 期临床试验。不同剂量给药后,人体均能较好地耐受。相当数量的患者还产生了较强的体液免疫反应。这使 AN-1792 顺利进入 II 期临床试验。然而,2002 年 3 月,在参加 2A 期临床试验的 360 个病人中,有 15 人先后出现了中枢神经系统非细菌性炎症,2 例出现了局部缺血性中风,这项临床试验被迫终止^[15]。但是 2A 期临床试验的数据资料,使人们对 $A\beta$ 主动免疫方法应用于人类的状况有了初步认识^[16,17]。

最早公布的数据来自瑞士苏黎世的人体试验。30例轻到中度的AD患者参与了用预凝聚的A β 42——AN-1792主动免疫的临床试验。在此随机双盲实验中,30名患者接受了一次肌注基础免疫,间隔4周后加强1次,其中6例注射的是安慰剂。患者的血清和脑脊液被用于进行相关分析。加强免疫后采血得到的患者血清中大多出现了不同水平的抗-A β 抗体,能够与APP^{SW} × PS1^{M146L}转基因小鼠脑切片上的 β -淀粉样蛋白斑块及血管淀粉样蛋白发生反应。而相应的免疫前血清则大多不能使其上的任何特异性结构染色。WB分析表明,免疫血清不与从人类或转基因小鼠脑内提取的内源性全长APP、C-末端衍生物或A β 发生交叉反应,也不能与表达于293细胞表面的APP胞外结构域发生交叉反应,但能与AD和具有大脑淀粉样蛋白血管病(Cerebral amyloid angiopathy, CAA)患者的尸检脑切片中的 β -淀粉样沉积斑块发生强烈的结合。另外,对少量样本($n=6$)分析发现,加强免疫后患者脑脊液中能够检测到抗-A β 抗体。其滴度与患者血清抗-A β 抗体水平及其血脑屏障的完整性都呈现相关性。出现轻度脑炎症状的患者有血脑屏障损伤。其免疫后血清中抗-A β 42抗体的滴度仅略有上升(从 $<1:50$ 到 $1:800$),而其脑脊液中的抗体滴度却高达 $1:1000$ 以上。患者在给予甲基强的松龙治疗以后,炎症迅速消除^[16]。

2003年3月17日,第一例临床试验死亡病例的尸检结果也被公布。受试者为女性,共接受了Elan的5次AN-1792 A β 42肽注射免疫。前4次免疫后均未发现任何明显的副作用。但第5次注射后6个星期(为首次治疗开始后42周),患者出现了头晕、嗜睡、步履蹒跚和发热等症状。2周后进行核磁共振检查,诊断有脑内炎症。给予消炎药地塞米松治疗后症状未见改善,约10个月后病人死亡。尸检病理结果表明,在患者大脑新皮质淀粉样蛋白沉积斑块极少,如在颞叶就没有斑块出现。而对照组7例未免疫的AD患者此部位的沉积斑块都达到 ~ 100 个/ mm^2 。相似地,患者额叶、顶叶和枕叶也均看不到沉积斑块。而在小脑和基底神经节则发现了相当数量的斑块。这些部位通常在AD晚期才会被损伤。这也可以看到AN-1792清除大脑皮质淀粉样蛋白沉积的惊人作用。而其炎症症状的出现可能与CAA相关。在死亡病例中,淋巴细胞穿越损伤的血脑屏障浸润到脑膜中,尤以CAA严重的区域为甚^[17,18]。

人体试验的受阻使发热的AD疫苗开发暂时停下了脚步,但还是获得了至为宝贵的经验。尤为重要的是,用凝聚态的人A β 42免疫的确能够打破人体耐受,这也打破了人们很久以来的悬念,在绝大多数病人体内有效地诱发出 β -淀粉样蛋白的抗体,它们具有高度的选择特异性,并且可以观察到类似于动物实验中清除A β 沉积的巨大作用。然而,仍需要更多的实验来排除引发严重自身免疫病的各种可能。

3 主动免疫清除A β 沉积机理的研究

虽然已有充足的证据表明,A β 42主动免疫可以预防或清除脑中淀粉样蛋白沉积。但对这种作用的免疫机制的探

讨却至今莫衷一是。目前有3种解释受到广泛关注:抗体Fc片段受体介导的单核/小胶质细胞吞噬作用^[4]、抗体介导的淀粉样蛋白纤维解聚^[19]和外周A β 沉降槽理论^[20]。它们各自有相应证据的支持。

受体介导吞噬理论由Schenk等提出。他们推测抗-A β 抗体进入中枢神经系统后,通过其Fc片段的受体介导的单核/小胶质细胞吞噬作用来清除A β ^[4]。他们发现用A β 42免疫小鼠后在其外周血中产生了滴度高达 $1:10000$ 以上的抗-A β 42抗体,并观察到有A β 免疫反应性的单核/小胶质细胞出现在剩余斑块的周围。以后的实验结果也证明,产生了高滴度抗体的小鼠都能够阻止脑内A β 沉积的形成^[4]。Schenk的推测还获得了来自被动免疫实验的证据。Bacsikai BJ等用介入治疗方法直接将抗A β 单抗10D5给至开颅的PDAPP小鼠大脑皮质表面,后以活体光量子影像技术(Multiphoton Imaging Technology)观测到在皮质用药部位附近的A β 沉积完全被小胶质细胞包围,其体积显著减少^[21]。Bard F等给PDAPP小鼠腹腔内连续注射抗A β 的单克隆抗体(10D5、21F12、3D6、16C11等)结果能激活小胶质细胞清除淀粉样蛋白斑块。用荧光色素标记的山羊抗小鼠免疫球蛋白与经单抗3D6和10D5治疗的PDAPP小鼠的脑切片反应,发现其上有斑块的部位缀满荧光信号。他们并在体外实验中证实了10D5确可激活小胶质细胞的吞噬作用,而且这种激活是由单抗的Fc而不是(Kab')₂片段诱发的。据此,认为这些单抗从外周穿越血脑屏障进入了中枢神经系统,结合在淀粉样蛋白斑块上,由此激活小胶质细胞通过Fc受体介导的内吞作用清除已经存在的淀粉样蛋白^[22]。以上的研究结果使Schenk的受体介导吞噬理论得到广泛认同。

Solomon等从蛋白折叠的角度提出,单抗AMY-33像分子伴侣一样,识别淀粉样蛋白的折叠起始位点,并能够将纤维化的 β -淀粉样蛋白逆转为非纤维化构型^[19]。他们在体外实验中已经证实了这一点。有理由推测,体内清除淀粉样沉积斑块也可能使用了同样的机制。后来Solomon延伸这一策略,提出用这种方法治疗蛋白折叠病。即用位点特异性单抗与体内蛋白不正确折叠的起始位点作用,从而使蛋白稳定,不至沉积^[23]。体内诱发特异性的抗体,也可能通过影响APP或A β 的构型而使蛋白保持可溶状态。这一理论还可很好解释主动免疫不影响A β 的产生但阻止其沉积的问题。

上述两种机制的共同前提是主动免疫产生的抗体必须穿过血脑屏障。但是正常生理条件下抗体如何穿过血脑屏障尚不清楚。DeMattos RB通过实验提出另一种截然不同的想法:外周A β 沉降槽理论(Peripheral A β Sink)。

DeMattos等将抗A β 单抗m266从静脉注射至PDAPP小鼠体内,结果血浆中的A β 水平上升了1000倍左右^[20]。DeMattos RB提出,由于未治疗动物的血浆A β 水平非常低,而且A β 只在转基因小鼠的脑中产生,故认为注射到外周血中的m266事实上促使中枢神经系统产生的A β 从脑内穿过血脑屏障流动到外周血中,起到了一个“外周A β 沉降槽”的作用,从而阻止了A β 在中枢神经系统的沉积^[20]。有实验表明,可

溶性的 $A\beta$ 可以越过血脑屏障在中枢神经系统 and 外周血之间自由来去^[24], 这为 DeMattos 的沉降槽理论提供了有力证据。长期注射 m266 能够显著减少其脑内的 $A\beta$ 沉积, 但外周血中标记的 m266 并没有进入中枢神经系统。显然, m266 不是通过激活小胶质细胞的机制清除已经存在的 SP 的。DeMattos 认为是 $A\beta$ 从中枢神经系统进入外周血, 而抗体则不能穿越血脑屏障进入中枢神经系统^[20]。

三种理论从不同的角度设想了清除 $A\beta$ 沉积的可能机制, 但体内究竟是哪种机理在作用或者哪种方式占主导地位还需要进一步的研究。深入研究和探讨体内 $A\beta$ 沉积的清除机制, 对临床试验具有重要的指导意义。

4 AD 疫苗中存在的问题与前景

综上所述, 不同形式 $A\beta$ 主动免疫的治疗方法在大量的动物实验中均获得了成功, 而且人体试验更证明, 用人类 $A\beta$ 免疫的部分患者体内的确能够诱发较高滴度的抗- $A\beta$ 的自身抗体^[16], 也能够有效遏制大脑特定区域淀粉样蛋白的沉积。这已经是一个概念上的重大进步, 是对传统免疫学的一个挑战。但要将这种策略真正运用于人类 AD 的预防和治疗, 仍有很多问题需要解决。

首先, 从理论上将抗体如何穿越血脑屏障进入中枢神经系统, 并结合到脑内沉积斑块上, 是一个值得探索的问题。Greenberg 等认为人体试验中主动免疫在血管中引起了严重的针对淀粉样蛋白的炎症反应, 导致血脑屏障的破坏, 患者脑血流异常, 进而出现一系列的临床症状^[18]。这个结果可能是一个启示: 在转基因动物实验中, 外周血中高滴度的抗体有可能就是通过局部轻微的炎症反应破坏某些脑血管上的淀粉样蛋白沉积, 少量进入中枢神经系统结合到脑内沉积斑块上的。正常情况下, 血脑屏障虽然不是绝对封闭的生理结构, 但其瞬间打开所能透过的大分子也是微乎其微。若仅循正常途径, $A\beta$ 特异性抗体不太可能在脑脊液中达到一个有效的治疗滴度。然而, 与其它免疫后产生的抗体有所不同, 抗- $A\beta$ 抗体是一种自身蛋白的抗体, 它有可能与血管壁上存在淀粉样蛋白的部位发生结合并由此引发炎症反应。这种破坏虽是局部和轻微的, 但在维持血清高滴度抗体的情况下总体发生率却可能较高。如果这个解释成立, 那么在预防或治疗中最有可能发生自身免疫病的是那些在外周已经有了较明显淀粉样蛋白沉积症的患者。目前有希望通过 β -淀粉样蛋白神经造影技术的进步, 选择尚未形成重度 CAA 的病例进行治疗, 避免副作用的出现, 即适应症策略^[19]。这个问题应不会成为这一治疗策略的瓶颈。

另外, 还可以采取其他措施将导致自身免疫病的危险性降到最低。如降低免疫剂量, 诱发较为温和的免疫反应; 降低免疫原可能的毒性; 用表位疫苗等诱发特异性更强的体液免疫反应; 使用针对性强的被动免疫方法, 不激发细胞免疫反应^[21]。随着时间发展和经验的积累, 相信在副作用和疗效之间可以达成最终平衡的解决方案。

其次, 必须依据临床试验所进行的治疗对改善患者认知

功能和阻止痴呆病程发展的效果^[16], 来确立疫苗策略的可行性和临床价值。虽然在动物模型中主动免疫的确能够改善精神症状, 但那毕竟只是仅由淀粉样蛋白沉积引起行为学损伤的模型。但现在已经知道针对 $A\beta_{42}$ 的免疫并不能对神经原纤维缠结有任何影响。而在人体, 神经原纤维缠结也与认知功能损伤密切相关^[17]。因此其预防和治疗 AD 的效果仍需进一步证实。

作为一种全新的治疗策略, 除了深入研究 $A\beta$ 沉积的清除机制, 对于 $A\beta$ 主动免疫也需要调整和完善其具体实施方法。当然, 如果这个策略能够对人类 AD 有效, 它也将有望应用于预防和治疗其他有细胞外斑块形成的疾病, 其重要意义不言而喻。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*, 1991, **82**: 239 - 259
- [2] Gomez-Isla T, Price JL, McKeel DW *et al.* Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2001, **116**: 4491 - 4500
- [3] Robinson S R, Bishop G M, Munch G. Alzheimer vaccine: amyloid-beta on trial. *Bioessays*, 2003, **25**(3): 283 - 288
- [4] Schenk D, Barbour R, Dunn W *et al.* Seubert P. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*, 1999, **400**(6740): 173 - 177
- [5] Games D, Adams D, Alessandrini R *et al.* Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717Fbeta-amyloid precursor protein. *Nature*, 1995, **373**(6514): 523 - 527
- [6] Janus C, Pearson J, McLauren J *et al.* $A\beta$ peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature*, 2000, **408**: 979 - 982
- [7] Morgan D, Diamond D M, Gottschall P E *et al.* A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature*, 2000, **408**(6815): 982 - 985
- [8] Lemere C A, Maron R, Selkoe D J *et al.* Nasal vaccination with beta-amyloid peptide for the treatment of Alzheimer's disease. *DNA Cell Biol*, 2001, **20**: 705 - 711
- [9] Lemere C A, Spooner E T, Leverone J F *et al.* Intranasal immunotherapy for the treatment of Alzheimer's disease: *Escherichia coli* LT and LI(R192G) as mucosal adjuvants. *Neurobiol Aging*, 2002, **23**(6): 991 - 1000
- [10] Nicolau C, Greferath R, Balaban T S *et al.* A liposome-based therapeutic vaccine against beta-amyloid plaques on the pancreas of transgenic NORBA mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99**(4): 2332 - 2337
- [11] Sigurdsson E M, Scholtzova H, Mehta P D *et al.* Immunization with a non-toxic/non-fibrillar amyloid-homologous peptide reduces Alzheimer's disease associated pathology in transgenic mice. *Am J Pathol*, 2001, **159**(2): 439 - 447
- [12] Frenkel D, Dewachter I, Van Leuven F *et al.* Reduction of beta-amyloid plaques in brain of transgenic mouse model of Alzheimer's

- 12): 1060 – 1065
- [13] McLaurin J , Cecal R , Kierstead M E *et al.* Therapeutically effective antibodies against amyloid- β peptide target amyloid- β residues 4-10 and inhibit cytotoxicity and fibrillogenesis. *Nature Medicine* , 2002 , **8** :1263 – 1269
- [14] Walsh D M , Klyubin I , Fadeeva J V *et al.* Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation *in vivo* . *Nature* , 2002 , **416** :535 – 539
- [15] Check E. Nerve inflammation halts trials for Alzheimer 's drug. *Nature* , 2002 , **415** :462
- [16] Hock C , Konietzko U , Papassotiropoulos A *et al.* Generation of antibodies specific for β -amyloid by vaccination of patients with Alzheimer disease. *Nature Medicine* , 2002 , **8** :1270 – 1275
- [17] Nicoll JAR , Wilkinson D , Holmes C *et al.* Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide : a case report. *Nature Medicine Advanced Online Publication* , 2003 March 17
- [18] Greenberg S M , Backsai B J , Hyman B T. Alzheimer disease 's double-edged vaccine. *Nature Medicine Advanced Online Publication* , 2003 March 17
- [19] Solomon B , Koppel R , Hanan E *et al.* Monoclonal antibodies inhibit *in vitro* fibrillar aggregation of the Alzheimer beta-amyloid peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 1996 , **93** (1) :452 – 455
- [20] DeMattos R B , Bales K R , Cummins D J *et al.* Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer 's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2001 , **98** (15) :8850 – 8855
- [21] Baekskai B J , Kajdasz S T , Christie R h *et al.* Imaging of amyloid-beta deposits in brains of living mice permits direct observation of clearance of plaques with immunotherapy. *Nat Med* , 2001 , **7** (3) :369 – 372
- [22] Bard F , Cannon C , Barbour R *et al.* Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med* , 2000 , **6** (8) :916 – 919
- [23] Solomon B. Anti-aggregating antibodies , a new approach towards treatment of conformational diseases. *Curr Med Chem* , 2002 , **9** (19) :1737 – 1749
- [24] Shibata M , Yamada S , Kumar S R *et al.* Clearance of Alzheimer 's amyloid- β (1-40) peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest* , 2000 , **106** (12) :1489 – 1499

Prophylactic and Therapeutic Vaccines Against Alzheimer 's Disease

ZHANG Zhu^{1 2} MA Qing-Jun^{1*}

¹(Beijing Institute of Biotechnology , Beijing 100850 , China)

²(The 464th Hospital of PLA , Tianjin 300381 , China)

Abstract β -amyloid(A β) immunization as vaccines has now become a promising approach for the prevention and treatment of Alzheimer 's disease(AD) after its debut in 1999. Transgenic mouse models of AD that develop age-dependent A β deposition , damage to the neuropil , and behavioral deficits have enabled researchers to test if the approach can influence these AD-like pathologic changes in their brains. Active immunization with different forms of A β and protocols have been shown to decrease brain A β deposition and improve cognitive performance in these mice models in the following studies. Although the phase II clinical trials of active immunization with A β (AN1792) were halted last year due to the occurrence of CNS inflammation in a small subset of patients , researchers found that strong humoral responses can be induced by the vaccination. Furthermore , the active immunization also brings an almost complete clearance of A β from much of the cerebral cortex. A β specific antibodies are believed to cross blood-brain barrier by minimal destroy of vascular wall where amyloid depositions exist. Three possible mechanisms on removal of A β deposition from brain have also been reviewed. Still some problems should be clarified before this strategy could be applied for clinical therapy. Whether vaccination will improve the cognitive decline in AD patients will depend upon clinical assessments , which was vital to destiny of the approach.

Key words Alzheimer 's disease(AD) , amyloid , vaccine , active immunization